

**ROGÉRIO RODRIGUES SCHMIDT**

**MODELO EXPERIMENTAL DE TRANSPLANTE  
AUTÓLOGO OVARIANO EM RATAS WISTAR**

Trabalho apresentado à Universidade  
Federal de Santa Catarina, para a  
conclusão do Curso de Graduação em  
Medicina

**FLORIANÓPOLIS – SANTA CATARINA**

**2000**

**ROGÉRIO RODRIGUES SCHMIDT**

**MODELO EXPERIMENTAL DE TRANSPLANTE  
AUTÓLOGO OVARIANO EM RATAS WISTAR**

Trabalho apresentado à Universidade  
Federal de Santa Catarina, para a  
conclusão do Curso de Graduação em  
Medicina

**Coordenador do Curso: PROF. DOUTOR EDSON JOSÉ CARDOSO**

**Orientador: PROF. DOUTOR ARMANDO JOSÉ D'ACAMPORA**

**Co-orientador: PROF. DOUTOR RICARDO TRAMONTE**

**FLORIANÓPOLIS – SANTA CATARINA**

**2000**

Schmidt R. R.. *Modelo experimental de transplante autólogo ovariano em ratas Wistar.*

Florianópolis, 2000.

35p.

Trabalho apresentado à Universidade Federal de Santa Catarina para a conclusão do Curso de Graduação em Medicina – UFSC.

1. Ovário 2. Transplante autólogo 3. Ratos.

## AGRADECIMENTOS

Ao **PROFESSOR DOUTOR ARMANDO JOSÉ D'ACAMPORA**, crítico incansável na orientação deste trabalho, pelos ensinamentos na área de pesquisa experimental e pela dedicação profissional como médico e professor.

Ao **PROFESSOR DOUTOR RICARDO TRAMONTE** pelo auxílio na elaboração e revisão do trabalho.

Ao **PROFESSOR DOUTOR EDSON JOSÉ CARDOSO** pela amizade e por ceder os materiais microcirúrgicos necessários à realização deste trabalho.

Aos funcionários do LABORATÓRIO DE TÉCNICA OPERATÓRIA E CIRURGIA EXPERIMENTAL, em especial ao **Sr. LUIZ HENRIQUE PRAZERES** e **Sr. CHARLES VEIGA**, pelo apoio e colaboração na realização dos procedimentos experimentais.

Ao acadêmico **FABRÍCIO SILVA MANOEL** pelo companheirismo e amizade ao longo do curso.

Aos meus familiares, em especial a meus pais, **EDISON BOOS SCHMIDT** e **MARIA HELENA RODRIGUES SCHMIDT** companheiros inseparáveis ao longo de minha jornada.

Ao **Dr. LUCIANO RODRIGUES SCHMIDT**, pelo apoio, companheirismo e ensinamentos transmitidos.

À **MARCOS RODRIGUES SCHMIDT**, pela ajuda na realização do *summary* incluso neste trabalho.

À **GRACIELA DE OLIVEIRA RICHTER** pela compreensão, paciência e amor em todos os momentos.



# ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO.....	4
2. OBJETIVO.....	7
3. MÉTODO.....	8
4. RESULTADOS.....	16
5. DISCUSSÃO.....	21
6. CONCLUSÃO.....	26
7. REFERÊNCIAS.....	27
NORMAS ADOTADAS.....	30
RESUMO.....	31
SUMMARY.....	32
APÊNDICE.....	33
ANEXOS.....	35

# 1- INTRODUÇÃO

A idéia do transplante ovariano é antiga. Muitas técnicas de transplante autólogo têm sido descritas desde 1896.<sup>1</sup>

Os transplantes, têm sido realizados, com o intuito do estudo da fisiologia ovariana e do sistema reprodutor.<sup>2</sup> Entretanto, estes estudos mostraram que o transplante poderia ser também uma alternativa de tratamento do hipoestrogenismo e infertilidade decorrentes da falência ovariana.<sup>3,4</sup>

A partir de 1949, após o trabalho de HARRIS e EAKIN,<sup>5</sup> que realizaram estudo de transplante autólogo e heterólogo, surgiram múltiplos estudos sobre o assunto. Estes autores, realizaram a ooforectomia, e transplantaram o ovário para o tecido celular subcutâneo da parede ventral do abdome de ratas.

Observaram, principalmente, a reação de rejeição, alterações histológicas no enxerto e no sítio de enxertia, correlacionando-as com a manutenção da função ovariana.

Em 1979, BEYTH e POLISHUK<sup>4</sup> realizaram um trabalho clínico em humanos e experimental em ratas, submetendo-os à transplante ovariano com anastomose vascular na intimidade do miométrio (Cirurgia de ESTES). Visavam ao tratamento da infertilidade. Perceberam que havia viabilidade do tecido ovariano transplantado.

Em 1981, SCOTT et al.<sup>6</sup> compararam transplante autólogo e heterólogo ovariano em primatas, ambos com anastomose vascular. Demonstraram a viabilidade técnica deste procedimento.

Em 1982, DENJEAN et al.<sup>1</sup> realizaram transplante autólogo ovariano em coelhas com anastomose vascular. Utilizaram uma bolsa de tecido peritoneal envolvendo o ovário transplantado.

Ainda em 1982, GREEN et al.<sup>7</sup> realizaram um estudo em coelhas comparando transplantes autólogos com e sem anastomose vascular concluindo que ambas as técnicas eram viáveis. Estudaram também enxertos heterólogos concluindo que o ovário também apresenta reação de rejeição a exemplo de outros tecidos.

Em 1983, LE ROUX<sup>8</sup>, desenvolveu um modelo experimental em cães realizando ooforectomia bilateral e implantando fragmentos de tecido ovariano na parede gástrica. Observou que o tecido transplantado permanecia viável.

Em 1984, QUATTROPANI<sup>2</sup> realizou estudo em ratas submetidas a ooforectomia unilateral com subsequente implante de tecido ovariano no tecido celular subcutâneo da região inter-escapular. Demonstraram que o tecido ovariano era viável nos períodos pós-operatórios.

Em 1994, DISSEN et al.<sup>9</sup>, realizaram transplante autólogo ovariano em ratas, por meio de ooforectomia bilateral seguida de implante ovariano adjacente às veias jugulares internas, sem anastomose vascular. Foi demonstrada boa viabilidade do tecido transplantado.

Em 1998, CORLETA et al.<sup>10</sup> realizou estudo consistindo em transplante autólogo ovariano para o tecido celular subcutâneo do dorso de ratas. Foi comparada a eficácia do enxerto com ovário inteiro e fragmentos de tecido ovariano, ambos sem anastomose vascular.

Observa-se que em grande parte dos estudos realizados, apesar dos bons resultados obtidos, o tecido ovariano foi transplantado para locais distantes de seu sítio de origem sendo necessária a realização de incisões múltiplas durante a cirurgia. Visando evitar este inconveniente, decidiu-se desenvolver um novo modelo experimental de transplante ovariano sem anastomose vascular realizado

em retroperitônio de ratas, sendo possível transplantar este tecido num mesmo ato operatório.

## **2- OBJETIVO**

Desenvolver um modelo experimental de transplante ovariano autólogo, sem anastomose vascular, em retroperitônio de ratas Wistar.



### 3- MÉTODO

#### 3.1. AMOSTRA - ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO

Foram utilizados 60 *Rattus norvegicus* (Rodentia Mammalia), da linhagem Wistar, com idade de 60 dias, do sexo feminino, com peso entre 100 e 200 gramas, procedentes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Os animais foram distribuídos, aleatoriamente, em seis subgrupos compostos por dez animais.

Subgrupo A1 (n=10) - neste subgrupo os animais foram submetidos à ooforectomia bilateral seguidos do transplante ovariano para o retroperitônio sendo realizada a eutanásia no período pós-operatório de 24 horas.

Subgrupo A2 (n=10) - neste subgrupo os animais foram submetidos à ooforectomia bilateral seguidos do transplante ovariano para o retroperitônio sendo realizada a eutanásia no período pós-operatório de 72 horas.

Subgrupo A3 (n=10) - neste subgrupo os animais foram submetidos à ooforectomia bilateral seguidos do transplante ovariano para o retroperitônio sendo realizada a eutanásia no período pós-operatório de 5 dias.

Subgrupo A4 (n=10) - neste subgrupo os animais foram submetidos à ooforectomia bilateral seguidos do transplante ovariano para o retroperitônio sendo realizada a eutanásia no período pós-operatório de 7 dias.

Subgrupo A5 (n=10) - neste subgrupo os animais foram submetidos à ooforectomia bilateral seguidos do transplante ovariano para o retroperitônio sendo realizada a eutanásia no período pós-operatório de 14 dias.

Subgrupo A6 (n=10) - neste subgrupo os animais foram submetidos à ooforectomia bilateral seguidos do transplante ovariano para o retroperitônio sendo realizada a eutanásia no período pós-operatório de 28 dias.

Os procedimentos operatórios foram realizados no centro cirúrgico do Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da UFSC ( TOCE-UFSC ), após um período de adaptação, dos animais, de 7 dias. No período pós-operatório, os animais permaneceram numa sala especial, em gaiolas individuais, medindo 15 x 30 cm até o período previsto para a eutanásia.

A alimentação padronizada, com ração própria para a espécie, foi fornecida diariamente, com água *ad libitum*, exceto nas 12 horas anteriores à operação em que os animais permaneceram em dieta zero.

Semanalmente, 4 animais foram submetidos ao experimento.

### 3.2. PROCEDIMENTO ANESTÉSICO

Os ratos foram submetidos à anestesia geral com éter etílico via inalatória, seguida da administração solução de Cetamina\* e Xilasina\*, nas respectivas doses de 35mg/Kg e 5mg/Kg, por via intramuscular, na face interna da pata traseira esquerda, para manutenção anestésica. O animal foi considerado anestesiado, quando houve perda do reflexo córneo-palpebral sem exibir qualquer reação motora à preensão do coxim adiposo de uma de suas patas dianteiras. Repetiu-se 50% da dose inicial da solução quando o animal apresentou algum sinal de superficialização da anestesia.

---

\* KETALAR® Laboratório PARKE-DAVIS®

♦ ROMPUM® Laboratório BAYER®



### 3.3. TÉCNICA OPERATÓRIA

Após atingir plano anestésico, os animais foram posicionados em decúbito dorsal horizontal sobre uma prancha de madeira de 30 X 35 cm, fixado pelas patas com fios de algodão 0. Foi realizada depilação, por arrancamento dos pêlos da parede anterior do abdome, anti-sepsia com álcool iodado a 2% e colocado um pano estéril com fenestração de 12 centímetros quadrados para delimitação do campo operatório.

Com tesoura de METZENBAUM, foi realizada laparotomia mediana infra-umbilical de aproximadamente 3 cm, interessando a pele, tecido celular subcutâneo, linha alba e peritônio. Um afastador auto-estático de ADSON foi posicionado para manter o campo operatório em condições adequadas ao procedimento.

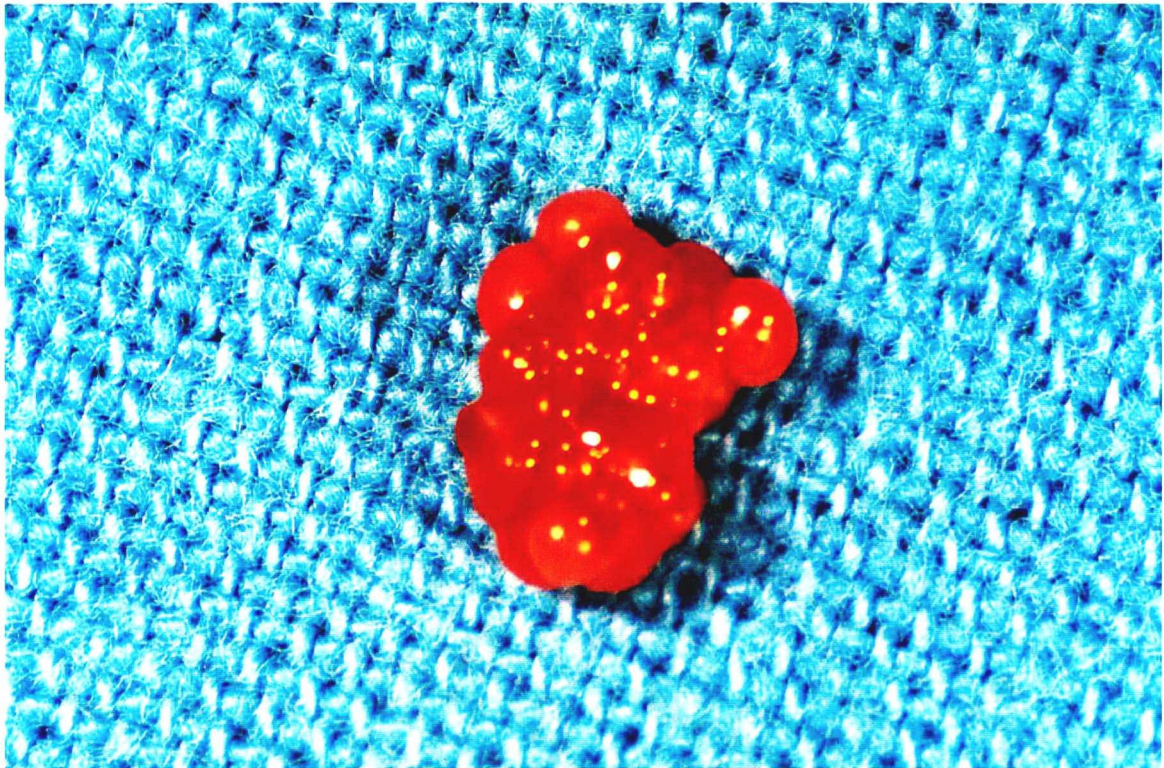
Após inventário da cavidade, os ovários, tuba uterina e útero foram localizados e individualizados .

Os tempos operatórios seguintes foram realizados sob microscopia óptica com aumento de 16x e instrumental microcirúrgico.

Foi então realizada a ligadura simultânea dos vasos ovarianos e da tuba uterina com fio monofilamentar de poligalactina 7-0, seguida da ooforectomia bilateral com tesoura microcirúrgica, primeiro à direita e em seguida, à esquerda.

Após a ressecção ovariana, as glândulas foram submetidas ao seguinte procedimento.

O ovário direito foi dissecado, ficando livre de tecidos adjacentes (FIGURA 1). Foi, então, submetido a um corte transversal realizado, com tesoura microcirúrgica, no ponto médio entre suas extremidades, dividindo-o em dois fragmentos simétricos. O fragmento distal à tuba uterina e o ovário esquerdo permaneceram intactos sendo, após, desprezados.



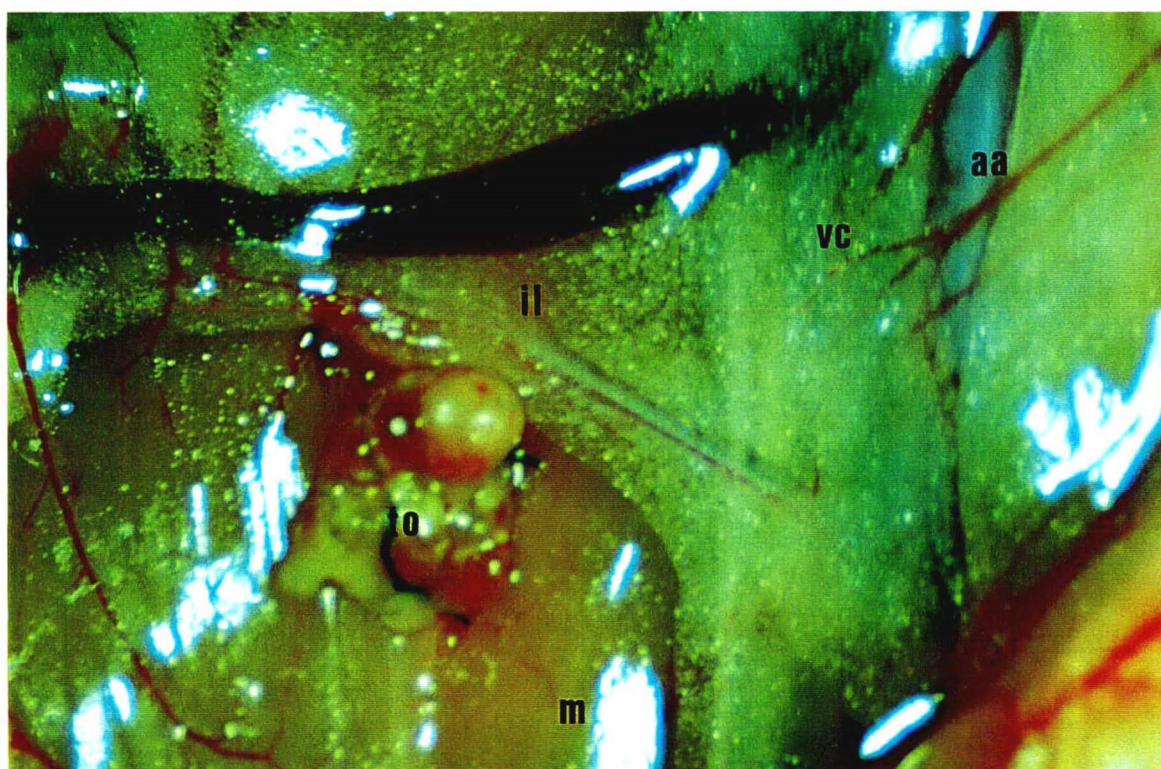
**Figura 1 - Fotomicrografia mostrando o ovário de rata com seu aspecto normal, após a realização da ooforectomia, estando livre de tecidos adjacentes. Aumento de 16x.**

O fragmento a ser implantado permaneceu em repouso sobre uma gaze umedecida em solução salina a 0,9%.

A seguir, foi realizada uma incisão à direita no retroperitônio, com tesoura microcirúrgica, de aproximadamente 0,5cm, em direção longitudinal, paralelamente à veia cava caudal distante 0,5cm desta e iniciada imediatamente caudal à veia íleo-lombar.

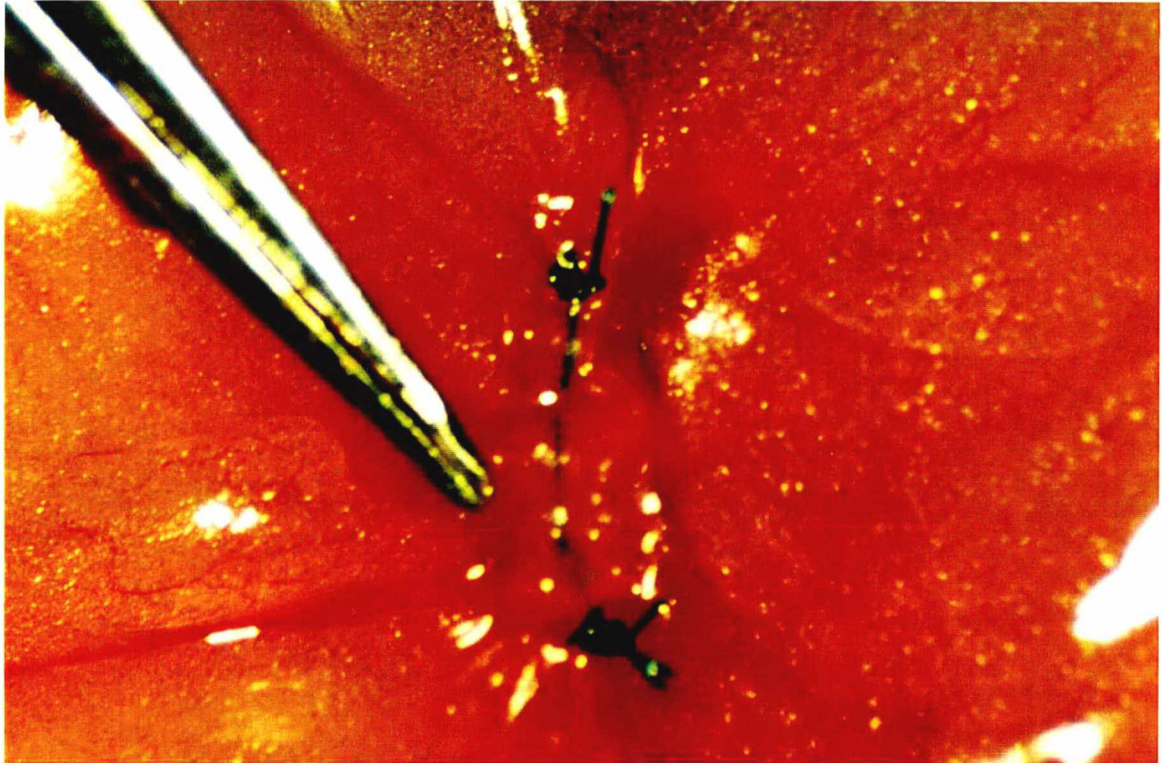


Sobre a fáscia do músculo psoas maior, o fragmento ovariano foi fixado com dois pontos utilizando fio de polipropileno 7-0 montado em agulha cilíndrica interessando todo o tecido ovariano e a fáscia do músculo psoas maior. O primeiro foi posicionado imediatamente caudal à veia íleo-lombar, fixando a porção distal da glândula. O segundo, foi realizado caudal ao primeiro, na face de secção do fragmento, posicionando-o paralelamente à veia cava caudal. (FIGURA 2)



**Figura 2 – Fotomicrografia, com aumento de 16x, mostrando o fragmento de tecido ovariano ( to ) fixado à fáscia do músculo psoas maior ( m ). ( il )Vasos ílio lombares. ( vc ) Veia cava caudal. ( aa ) Aorta abdominal.**

Após o implante, foi realizada síntese do retroperitônio, no sentido crânio-caudal, com sutura contínua com fio de polipropileno 7-0 montado em agulha cilíndrica. (FIGURA 3)



**Figura 3 - Fotomicrografia mostrando aspecto final da região do implante logo após a síntese do peritônio parietal posterior. Aumento de 16x.**

Após os tempos operatórios descritos, sob visão direta, foi realizada a síntese da parede abdominal em dois planos, o músculo-aponeurótico e a pele, respectivamente, com sutura contínua ancorada com agulha cilíndrica e com pontos separados com agulha traumática, ambas pré-montadas com fio monofilamentar de náilon 4-0.

Terminada a operação, todos os animais ficaram em ambiente aquecido a 37,5 graus centígrados, até se movimentarem livremente.



### **3.4. EVOLUÇÃO CLÍNICA PÓS-OPERATÓRIA**

Os animais foram examinados durante a recuperação anestésica e em visitas diárias, até o período para a eutanásia.

No período pós-operatório, foi realizada a observação diária da ferida operatória com relação aos sinais de hemorragia, deiscência e infecção, além de edema em membros posteriores.

### **3.5. AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA**

Os animais foram reoperados em períodos pós-operatórios de 24, 72 horas, 5, 7, 14, e 28 dias, utilizando-se a mesma técnica anestésica das operações.

A via de acesso à cavidade peritoneal era uma ampla incisão em forma de “U” invertido, iniciada na fossa ilíaca esquerda, contornando o rebordo costal e finalizada na fossa ilíaca direita.

Após, foram afastadas as alças intestinais e tecidos adjacentes, sendo exposta a região do implante.

Foram avaliados: ferida operatória, cavidade peritoneal e região do transplante ovariano.

A ferida operatória foi avaliada de acordo com a presença de deiscência de sutura, formação de abscesso e hematoma sendo considerada normal quando estes fatores estivessem ausentes.

Em relação à cavidade peritoneal, os parâmetros avaliados foram a formação de abscesso, presença de aderências e coleção líquida. Foi considerada normal na ausência destes parâmetros. As aderências, quando presentes eram especificadas em relação à estrutura e local envolvidos.

Quanto à região do transplante ovariano foi dada importância à identificação do ovário transplantado e presença de abscesso, hiperemia, necrose, aderências, neoformação vascular e coleção líquida retroperitoneal.

Os achados da avaliação macroscópica foram registrados no Protocolo I.

## **4- RESULTADOS**

Os resultados foram obtidos com base na evolução clínica dos animais e nos achados macroscópicos das reoperações.

### **4.1. EVOLUÇÃO CLÍNICA**

Na evolução clínica dos animais submetidos ao transplante ovariano autólogo, não foi observado óbito e foram poucas as complicações clínicas.

Em um animal do subgrupo A4, foi observada formação de pequeno abscesso e deiscência de alguns pontos situados na pele. Ainda no subgrupo A4, outro animal apresentou deiscência de alguns pontos na pele. Em um animal do subgrupo A6, foi observada formação de pequeno abscesso na linha de sutura da pele.

### **4.2. AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA**

Durante a reoperação, a avaliação da ferida operatória confirmou os achados observados durante a evolução clínica pós-operatória sendo que as deiscências limitavam-se ao plano cutâneo, estando a sutura do plano músculo-aponeurótico preservada.

A avaliação da cavidade peritoneal, em seu aspecto geral, evidenciou formação de aderências em vários animais.



A aderência dos cornos uterinos a segmentos de alça de intestino delgado foi observada em um animal do subgrupo A2, um animal do subgrupo A3, quatro animais do subgrupo A4, três animais do subgrupo A5 e cinco animais do subgrupo A6 (TABELA I). Em um animal do subgrupo A6, além de aderência a segmento de alça de delgado, foi observada aderência do corno uterino esquerdo ao reto.

TABELA I – Aderência dos cornos uterinos a segmentos de alça de intestino delgado

Aderências	A1		A2		A3		A4		A5		A6	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Presença	0	0	1	10	1	10	4	40	3	30	5	50
Ausência	10	100	9	90	9	90	6	60	7	70	5	50
Total	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100

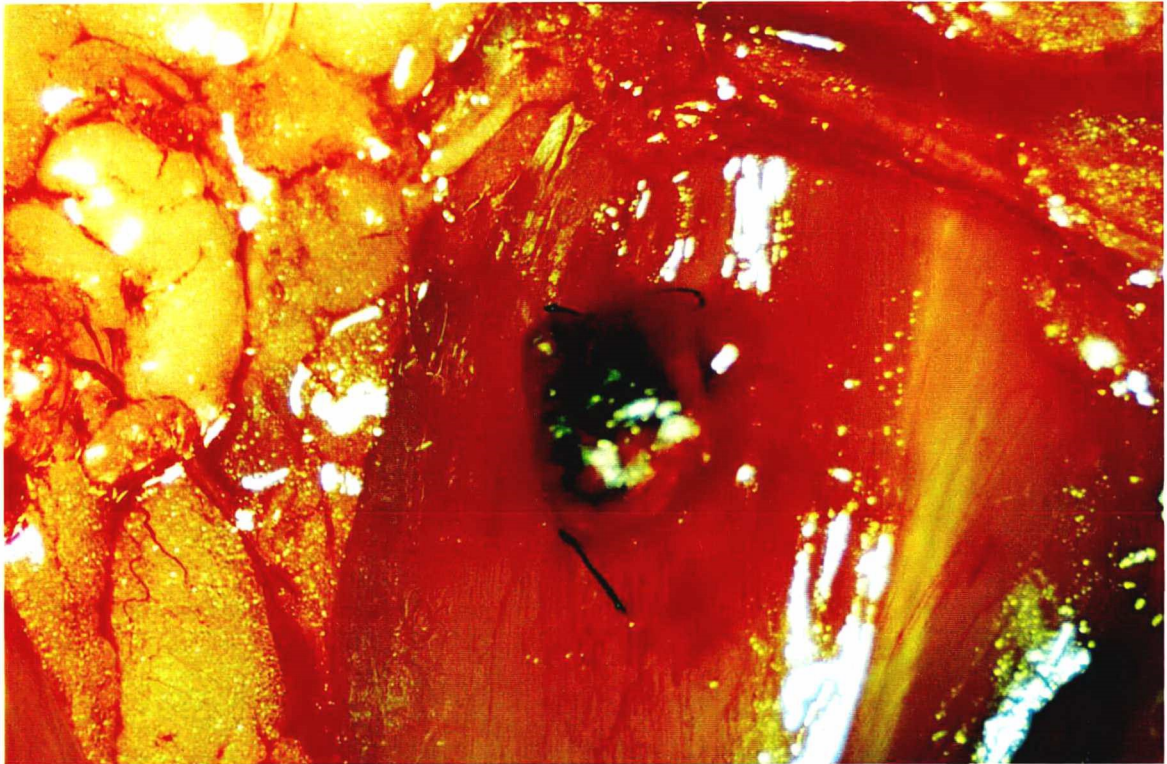
O exame da região circunjacente ao local do transplante ovariano mostrou aderências do corno uterino ao local de sutura do peritônio parietal posterior, em todos os animais analisados. Estas aderências eram frouxas, facilmente desfeitas por dissecação romba. No tecido ovariano propriamente dito não foram evidenciadas estruturas aderidas sobre sua superfície.

Quanto à avaliação da região do transplante, em apenas um animal do subgrupo A5, o fragmento ovariano transplantado não foi identificado, sendo constatada a presença de tecido adiposo e conjuntivo no sítio de implantação.

Em nenhum dos animais analisados foi observada formação de abscesso e presença de tecido necrótico no fragmento ovariano transplantado.

Em um animal do subgrupo A2, foi observada formação de pequeno hematoma no terço inferior do fragmento ovariano transplantado.

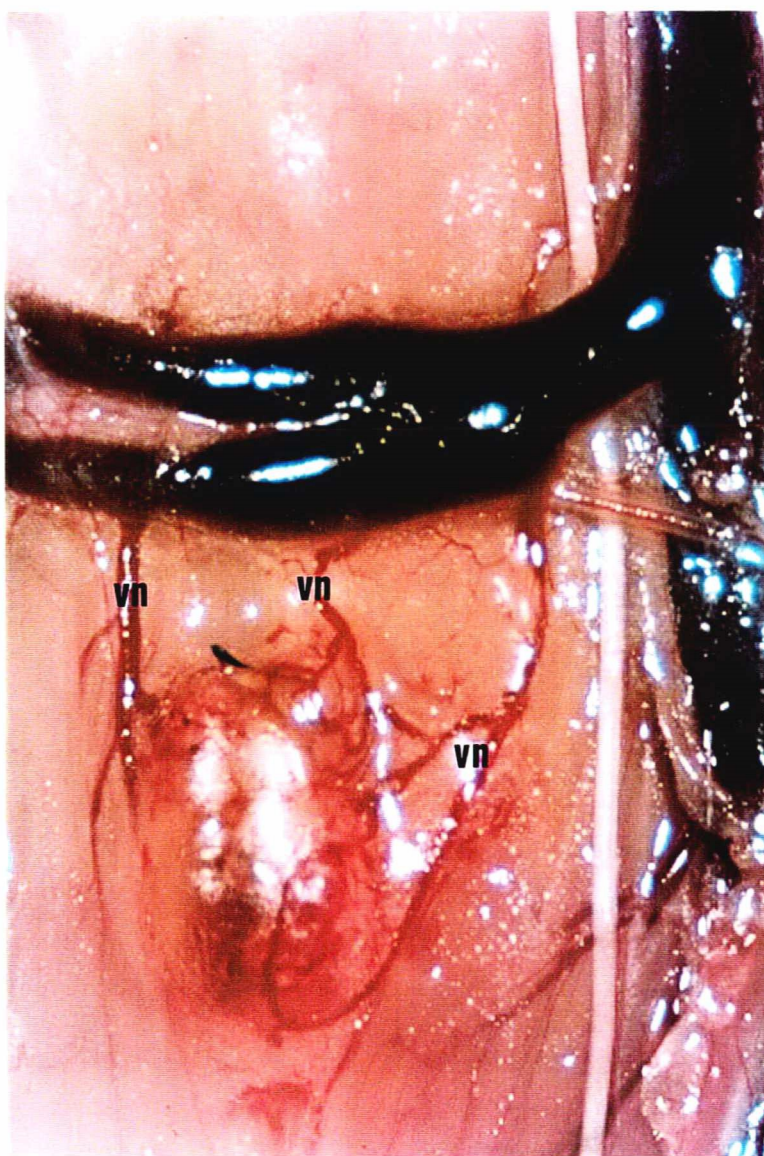
Nos animais do subgrupo A1, o tecido ovariano transplantado tinha aspecto macroscópico praticamente inalterado em relação ao momento da cirurgia. Em oito animais do subgrupo A2, o tecido ovariano transplantado apresentou-se difusamente hiperemiado (FIGURA 4).



**Figura 4 - Fotomicrografia com aumento de 16x mostrando o tecido ovariano transplantado com 72 horas de evolução pós-operatória. Observa-se o aspecto difusamente hiperemiado.**



Com exceção dos animais do subgrupo A1 e A2 e um animal do subgrupo A5, o do tecido transplantado apresentou-se com aspecto cístico, contendo tecido ovariano de coloração amarelada e um líquido fluido, estando envolvido por uma cápsula translúcida e situado imediatamente abaixo do peritônio parietal posterior (FIGURA 5).



**Figura 5 - Fotomicrografia com aumento de 16x mostrando o tecido ovariano transplantado com 28 dias de evolução pós-operatória. Observa-se o tecido ovariano envolvido por cápsula translúcida contendo líquido claro e a presença de vasos neoformados (vn) bem definidos na região do transplante.**

A presença de neovascularização, no sítio de implantação e no tecido ovariano transplantado, foi macroscopicamente observada em nove animais do subgrupo A3, em nove animais do subgrupo A4, em dez animais do subgrupo A5 e em dez animais do subgrupo A6 (TABELA II).

TABELA II – Vasos neoformados no fragmento de tecido ovariano transplantado e no sítio de implantação.

Vasos neoformados	A1		A2		A3		A4		A5		A6	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<b>Presença</b>	0	0	0	0	9	90	9	90	10	100	10	100
<b>Ausência</b>	10	100	10	100	1	10	1	10	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>10</b>	<b>100</b>	<b>10</b>	<b>100</b>	<b>10</b>	<b>100</b>	<b>10</b>	<b>100</b>	<b>10</b>	<b>100</b>	<b>10</b>	<b>100</b>

Foi observada presença de coleção líquida retroperitoneal, de aspecto seroso, em quatro animais do subgrupo A5 e dois animais do subgrupo A6.

## 5- DISCUSSÃO

O animal escolhido foi o rato, pela fácil aquisição e manuseio, acomodação em pequeno espaço e manutenção econômica. Além disso, é um animal de experimentação com resposta imunológica e resistência a infecção muito bem estabelecidos na literatura. Em virtude destas características, atualmente, é o animal de experimentação mais utilizado <sup>11</sup>.

Para o estudo do transplante optou-se por usar animais adultos, com 60 dias de vida, pois nesta fase, já apresentam maturidade ovariana completa, com função hormonal adequada e fertilidade estabelecida. <sup>12</sup>

O procedimento anestésico foi definido durante o estudo piloto. A utilização do éter etílico por via inalatória para indução da anestesia geral, facilitou o manuseio do animal para aplicação da injeção intra-muscular da solução de xilasina e cetamina, usada para manutenção anestésica, e acelerou o início da operação. O éter é um anestésico volátil potente, podendo ser usado para atingir todos os planos anestésicos sem auxílio de qualquer droga pré-anestésica e fornece ótimo relaxamento muscular. Tem as desvantagens de ser irritante para a mucosa respiratória e depressor do miocárdio, manifestações que podem exacerbar problemas preexistentes <sup>13</sup>. Como os animais utilizados eram aparentemente hígidos, não foram considerados tais problemas inerentes ao anestésico. A cetamina produz anestesia dissociativa. Quando usada isoladamente, produz um bom relaxamento muscular, no entanto, a analgesia é insatisfatória, sendo indicada para procedimentos superficiais com pouco estímulo doloroso <sup>13</sup>. Quando associada à xilasina, um agonista alfa-2-adrenérgico com propriedades sedativas e analgésicas, propicia um plano



anestésico médio com bom relaxamento muscular, considerado bastante aceitável para procedimentos na cavidade peritoneal, podendo ser complementada se necessário<sup>13</sup>.

A viabilidade técnica em vários métodos para a realização de transplante ovariano autólogo está comprovada na literatura.<sup>1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,14,15</sup> Os resultados são significativamente melhores em relação os transplantes ovarianos heterólogos que não se apresentam viáveis nos períodos pós-operatórios devido a processo de rejeição.<sup>5,6,7</sup> Decidiu-se, então, optar pela realização de transplante ovariano autólogo visando evitar possíveis reações de rejeição.

O local de implante escolhido para este estudo foi a região retroperitoneal. Apresentou-se ricamente vascularizada, sendo facilmente acessada durante o procedimento cirúrgico na cavidade peritoneal. Estes fatores permitiram que a realização da ooforectomia e o implante do tecido ovariano fossem realizados durante o mesmo ato cirúrgico.

GREEN et al.,<sup>7</sup> ao estudar enxertos ovarianos autólogos com e sem anastomose vascular em coelhas, observou que o tecido ovariano transplantado sem anastomose vascular apresentou-se com necrose focal e pouco funcional. Por outro lado, quando ratas são utilizadas com esta finalidade, o tecido ovariano permanece viável e funcional sem a realização de anastomose microvascular.<sup>2,5,9,10,14</sup> Com base nestes dados, tornou-se potencialmente possível a realização deste estudo sem a utilização de anastomose de pédículo vascular.

Antes da implantação ovariana, a glândula era seccionada de modo que apenas um fragmento fosse transplantado. CORLETA et al.<sup>10</sup> ao realizar transplante ovariano autólogo sem anastomose vascular em ratas, observou que ao utilizar a glândula inteira, ocorriam alterações morfológicas de origem isquêmica devido a vascularização deficiente. Ao utilizar fragmentos ovarianos,

o processo isquêmico era menos intenso, havendo redução das alterações morfológicas e a manutenção da função hormonal.

A formação de aderências após intervenções cirúrgicas na cavidade peritoneal é freqüente, não sendo caracterizada como complicação de um procedimento específico. Vários fatores são responsabilizados pelo desenvolvimento das aderências, dentre eles: alterações na superfície peritoneal, isquemia, presença de corpo estranho ou sangue na cavidade e contaminação bacteriana com resposta inflamatória<sup>16,17</sup>.

SCOTT et al.,<sup>6</sup> ao estudar transplantes autólogos em primatas, utilizou como um dos parâmetros para demonstrar a viabilidade do procedimento, a identificação do tecido ovariano em laparotomias em diversos períodos pós-operatórios (*second look*). No presente estudo, em apenas um animal, o tecido ovariano não foi identificado sendo encontrado no sítio de enxertia tecido adiposo e conectivo. Este achado sugere que, nos tempos pós-operatórios previstos, o tecido ovariano permanecia viável.

A presença de aderências teciduais cobrindo a superfície ovariana após a realização de transplantes ovarianos autólogos é bastante freqüente.<sup>1</sup> Este fenômeno representa uma barreira física para a manutenção da função ovulatória.<sup>1,6,7</sup> Entretanto, o principal objetivo da realização do transplante autólogo é a manutenção da função ovariana endócrina.<sup>10</sup>

A utilização de materiais biológicos ou sintéticos poderia ser uma das alternativas para a garantia da preservação da função ovulatória. DENJEAN et al.<sup>1</sup> ao utilizar um invólucro peritoneal para a realização do transplante, obteve resultados com baixos índices de aderências periovarianas.

As aderências encontradas, no presente estudo, foram observadas sobre a região de síntese do peritônio parietal posterior. O tecido ovariano, recoberto pelo peritônio parietal posterior, permaneceu livre de aderências sobre sua



superfície. Isto sugere que o tecido peritoneal serviu de proteção contra as aderências a estruturas intra-peritoneais.

O processo de revascularização ovariana, após a realização de transplante autólogo, é precoce.<sup>2,5,9</sup> DISSEN et al.<sup>9</sup> observou que com 72 horas de evolução pós-operatória, os ovários transplantados de maneira autóloga apresentaram-se difusamente hiperemiados. O estudo histológico revelou que este aspecto macroscópico representava início de processo de revascularização. Outros autores identificaram, macroscopicamente, presença de vascularização em ovários transplantados<sup>5</sup> afirmando que estes vasos não eram originais do sítio de enxertia.<sup>2</sup> Nos animais estudados, o processo de revascularização ocorreu de maneira semelhante a citada na literatura. Em oito animais do subgrupo A2, o tecido ovariano transplantado apresentou-se difusamente hiperemiado. Nos subgrupos subsequentes, foi possível identificar macroscopicamente a presença de vasos neoformados que eram ausentes no local antes de realização do implante. Devido a boa vascularização do sítio de enxertia, este estudo sugere que anteriormente ao início do processo de revascularização ovariana, a glândula permaneceu nutrida por embebição em líquidos retroperitoneais.

Com exceção dos animais do subgrupo A1 e A2 e um animal do subgrupo A5, o tecido transplantado apresentou-se com aspecto cístico, contendo tecido ovariano de coloração amarelada e um líquido fluido, estando envolvido por uma cápsula translúcida. Este aspecto é comum a vários achados de estudos de transplante ovariano autólogo realizado em ratas.<sup>2,5,9</sup> QUATTROPANI,<sup>2</sup> ao avaliar microscopicamente estas estruturas, demonstrou que a cápsula envolvendo o ovário transplantado era constituída por tecido conjuntivo. Sugeriu que o conteúdo retido pela cápsula poderia ser líquido folicular sendo um indicativo indireto da ocorrência de ovulação.

A necrose representa uma das expressões morfológicas da morte celular. Refere-se a um espectro de alterações que sugerem a morte celular em um tecido vivo. As primeiras manifestações macroscópicas de necrose, por origem isquêmica, surgem em torno de 4 a 6 horas, sendo um processo com evolução progressiva e irreversível <sup>18</sup>. Em nenhum dos animais analisados foi encontrada evidência macroscópica de presença de necrose o que sugere que o tecido, previamente transplantado, permaneceu viável nos períodos pós-operatórios analisados.

Por meio dos parâmetros analisados no presente estudo, percebe-se que o tecido ovariano submetido ao transplante autólogo, em retroperitônio de ratas, permanece viável. Porém, estudos com técnicas histológicas poderiam definir de maneira mais clara, as alterações morfológicas presentes durante o processo de interação deste tecido em seu sítio de enxertia.

## **6- CONCLUSÃO**

O modelo experimental de transplante autólogo ovariano em retroperitônio de ratas Wistar é viável.

## 7- REFERÊNCIAS

1. Denjean, R, Boeckx, W, Gordts, S, Brosens, I. Ovarian transplantation by selective microvascular anastomoses in the rabbit. *Br J Obstet Gynaecol*,1982,98(8): 652-6, 1982.
2. Quattropani SL. Ovulation of ovarian implants in unilaterally ovariectomized rats. *Anat Rec* 1984;209(3):331-6.
3. Leporrier M, Theobald P, Roffe J, Muller G. A new technique to protect ovarian function before pelvic irradiation. *Cancer*,1987,60(11):2201-4.
4. Beyth Y, Polishuk WZ. Ovarian implantation into the uterus (Estes operation): clinical and experimental evaluation. *Fertil Steril* 1979,32(6):657-60.
5. Harris<sup>13</sup>. Harris M, Eakin RM. Survival of transplanted ovaries in rats. *J Exp Zool* 1949;112(1):131-164.
6. Scott JR, Keye WR, Poulson AM, Reynolds A. Microsurgical ovarian transplantation in the primate. *Fertil Steril*. 1981,36 (4):512-5.
7. Green CJ, Simpkin S, Grimaldi G, Johnson A. Pregnancy after autografting and allografting vascularized ovaries and en bloc vascularized ovaries with adnexa in rabbits. *Br. J. Obstet. and Gynaecol*. 1982;89(8):645-51.



8. Le Roux PH. Thyroid status, oestradiol level, work performance and blood mass of ovariectomised bitches bearing ovarian autotransplants in the stomach wall. *J S Afr Vet Assoc*, 1983,54(2):115-7.
9. Dissen GA, Lara, HE, Fahrenbach, WH, Costa ME, Ojeda, SR. Imature rat ovaries become revascularized rapidly after autotransplantation and show a gonadotropin-dependent increase in angiogenic factor gene expression. *Endocrinology* 1994;134(3):1146-54.
10. Corleta HE, Corleta O, Capp E, Edelweiss MI. Subcutaneous autologous ovarian transplantation in Wistar rats maintains hormone secretion. *Fertil Steril* 1998;70(1):16-9.
11. Waynforth, HB, Flecknell, PA. Experimental and surgical technique in the rat. 2.ed. London: Academic Press, 1992.
12. Freeman, EM. The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. In: Knobil, E, Neil, JD. *The physiology of reproduction*. 2.ed. New York: Reaven Press 1994. p. 613-58.
13. Marshall, BE, Longnecker, DE. Anestésicos gerais. In: Gilman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1991. p.189-204.
14. Harp R, Leibach J, Black J, Keldahl C, Karow A. Cryopreservation of murine ovarian tissue. *Cryobiology* 1994;31(4):336-43.

15. Bagwell JN, Chihai HJW, Peppler RD. Fine estrutura of the corpus luteum of the autograft ovary in the rat. *Cell Tiss Res*, 1976,171(5):375-9.
16. Papachristou DN, Fortner JG. Reconstruction of duodenal wall defects with the use of a gastric "island" flap. *Arch Surg*,1977,112(2):199-200.
17. Scudamore CH, Becker CD, Fache JS, Bianco R, Shackleton CR, Burhenne HJ, et al. Human amnion as a bioprosthesis for bile duct reconstruction in the pig. *Am J Surg*,1988,155(3):635-40.
18. Cotran, RS, Kumar, V, Robbins, SL. *Patologia Estrutural e Funcional*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1991.

## **NORMAS ADOTADAS**

NORMATIZAÇÃO PARA OS TRABALHOS DE CONCLUSÃO DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA. - Resolução n.º 001/99 do colegiado do curso de graduação em medicina da Universidade Federal de Santa Catarina

COLÉGIO BRASILEIRO DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL - Os princípios éticos da experimentação animal.

DeCS - Descritores em Ciências da Saúde. São Paulo: Bireme, 1992.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE - Nomina anatomica veterinaria. 3.ed. New York: Ithaca, 1983.



## RESUMO

Desenvolveu-se um modelo experimental de transplante ovariano autólogo em retroperitônio, visando evitar a realização de incisões múltiplas e deslocamento do tecido ovariano para sítios de enxertia distantes. Foram utilizados 60 ratos Wistar, com idade de 60 dias, do sexo feminino, com peso entre 100 e 200 gramas distribuídos em 6 subgrupos de acordo com os períodos previstos para a eutanásia.

Os animais foram submetidos a ooforectomia bilateral seguida da implantação de fragmento de tecido ovariano sem anastomose vascular, no retroperitônio, fixando-o sobre a fáscia do músculo psoas maior, imediatamente caudal à veia ílio-lombar direita, por meio de dois pontos com fio de polipropileno 7-0. Em seguida, foi realizada a síntese do peritônio parietal posterior.

Foram observadas poucas complicações clínicas. Na cavidade peritoneal, foi observada formação de aderência entre os cornos uterinos e segmentos de alça de intestino delgado. Na maioria dos animais, o tecido transplantado apresentou-se com aspecto cístico, contendo tecido ovariano de coloração amarelada e líquido fluido, estando envolvido por uma cápsula translúcida e situado imediatamente abaixo do peritônio parietal posterior. Vasos neoformados tornaram-se macroscopicamente visíveis a partir do quinto dia de evolução pós-operatória. Em nenhum dos animais analisados, houve evidência macroscópica de necrose.

Os dados obtidos permitem concluir que o modelo experimental desenvolvido é tecnicamente viável.

## SUMMARY

An experimental model of autologous ovarian transplantation in retroperitoneum has been performed, trying to avoid the use of multiple incisions and dislodgement of ovarian tissue to distant implant sites. Sixty female Wistar rats, 60-days of age old and weighting 100 to 200 grams, were used, being distributed in 6 subgroups according to predetermined periods for euthanasia.

Bilateral oophorectomy was performed followed by implantation of ovarian tissue fragment without vascular anastomosis, in the retroperitoneum, fitting it over the major psoas fascia, nearly dorsal-iliac vessels, by way of two stitches with polipropilen 7-0 thread. Later on, synthesis of the was done.

Few clinical complications were observed. In the peritoneal cavity, adhesion formation between the uterin horns and guts was observed. In the majority of the animals, the transplanted tissue presented a cystic aspect, containing yellow-colored ovarian tissue and fluid liquid, being involved in a translucent capsule and being situated immediately bellow the posterior parietal peritoneum. Neovascularization became macroscopically visible after the fifth day of post-surgery evolution. None of the analysed animals presented macroscopic necrosis.

The obtained data allows one to conclude that the developed experimental model is technically viable.

## APÊNDICE

### PROTOCOLO I

#### IDENTIFICAÇÃO

Código:                      peso:

#### ANESTESIA

Xilasina      ml

Cetamina    ml

ml de dose complementar

#### CIRURGIA

Técnica padrão    (   ) sim                      não (   )

Observações (fora da técnica padronizada):

#### EVOLUÇÃO PÓS OPERATÓRIA

imediata:

tardia:



## EUTANÁSIA DO ANIMAL

Data: \_\_\_\_\_ tempo pós-operatório: \_\_\_\_\_ peso: \_\_\_\_\_

### Avaliação Macroscópica:

Ferida operatória ( ) normal ( ) deiscência ( ) abscesso ( ) hematoma

Cavidade peritoneal      (☐) normal  
                                     (☐) abscesso  
                                     (☐) aderências - Localização:

Região do transplante ovariano:      ovário identificado (   ) sim    (   ) não

(   ) abscesso

(   ) hiperemia

(   ) necrose

(   ) aderências - localização

(   ) hematoma

(   ) presença de vasos

(   ) presença de coleção líquida retroperitoneal

Outras observações:

## **ANEXOS**

### **ENTIDADES E ÓRGÃOS ENVOLVIDOS**

Este trabalho fez parte das atividades de pesquisa da Disciplina de Técnica operatória e Cirurgia Experimental do Departamento de Clínica Cirúrgica da Universidade Federal de Santa Catarina.

### **RECURSOS MATERIAIS**

Os recursos materiais necessários para o desenvolvimento do trabalho estavam disponíveis na própria Universidade Federal de Santa Catarina, sendo listados a seguir:

- a. Animais de Laboratório - Fornecidos pelo Biotério Central da UFSC.
- b. Instrumental Cirúrgico - fornecidos pelos professores doutores Armando José D'Acampora e Edson José Cardoso.

**TCC  
UFSC  
TO  
0295**

**Ex.1**

**N.Cham. TCC UFSC TO 0295**

**Autor: Schmidt, Rogério R**

**Título: Modelo experimental de transplan**



972813612

Ac. 254425

**Ex.1 UFSC BSCCSM**